

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2007～2008
課題番号：19591526
研究課題名（和文） エピジェネティクスに基づく乳癌リスク診断マーカーの開発
研究課題名（英文） Epigenetic marker in human breast cancer
研究代表者
宮本 和明（MIYAMOTO KAZUAKI）
独立行政法人国立病院機構（呉医療センター臨床研究部）室長
研究者番号：30332373

研究成果の概要：

エピジェネティックな異常に着目することにより乳癌の診断およびサブタイプマーカーを探索し以下の点について明らかにした。1) 幹細胞形質維持に重要な腫瘍抑制遺伝子 PTEN の DNA メチル化異常を伴わない高頻度な発現低下、2) HER2 陽性乳癌に特徴的な 8 種類の新規 microRNA 異常、3) 幹細胞転写因子 OCT4 の乳癌における高頻度の発現亢進。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計			

研究分野：外科

科研費の分科・細目：7301 2

キーワード：乳癌

1. 研究開始当初の背景

乳癌の発生および進展にはエピジェネティックな異常が重要な役割を果たすと考えられている。エピジェネティックな異常は早期病変から認められ、遺伝子発現制御を介して乳癌のサブタイプの違いに関与すると考えられる。エピジェネティックな異常は臨床検

体において高感度に検出が可能であり、乳癌の診断マーカーおよび治療反応性のサブタイプマーカーとして利用できる可能性がある。

2. 研究の目的

乳癌の診断およびサブタイプマーカーをエ

ピジエネティックな分子機構に着目し明らかにする。

3. 研究の方法

1. 腫瘍抑制遺伝子 PTEN の乳癌における異常

PTEN のシグナル伝達は幹細胞維持および癌化に重要な役割を果たしている。PTEN のエピジエネティックな異常としての DNA のメチル化異常、および PTEN の蛋白質レベルでの発現を解析した。

2. 乳癌における microRNA 発現異常の探索

HER2 シグナルは幹細胞形成に関与することが示唆されている。HER2 陽性乳癌に着目し、アレイ解析により新たな microRNA 異常の同定を試みた。

3. 乳癌における転写因子 OCT4 の発現解析 OCT4 は初期胚の多能性集団の確立と多能性維持に関与する転写因子である。OCT4 の乳癌における発現について蛋白質レベルで検討した

4. 研究成果

1. 乳癌におけるPTENのDNAメチル化異常および蛋白質発現について解析し、乳癌 27 症例においてDNAメチル化異常が認められないことを示した。一方、PTEN蛋白質の発現は27症例中の13例（48%）において低下していた。

2. HE2陽性乳癌細胞で発現が亢進している microRNA のうち5種類を乳癌患者血液中で検出した。従来の乳癌腫瘍マーカーがすべて陰性の症例においてこれらのmicroRNAが検出可能であった(図1)。さらに、ホルモン受容体陽性乳癌とHER2陽性乳癌の違いに着目し、HER2陽性乳癌において発現が亢進している microRNA として、hsa-miR-31、hsa-miR-130a、hsa-miR-29a、hsa-miR-675、hsa-miR-205、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-423-3p、および hsa-miR-29c の8種類を新たに同定した(図2)。

3. OCT4 の乳癌における発現はホルモン受容

体陽性乳癌の73%(28/37)、HE2陽性乳癌の83%(5/6)、トリプルネガティブ乳癌の100%(5/5) で高発現していた。

図 1

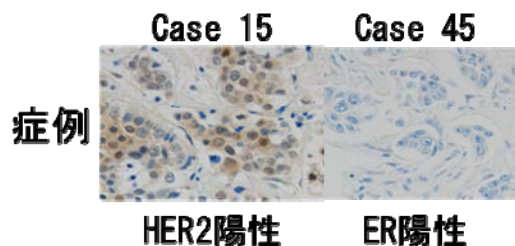
Detection of Cancer with blood miRNAs

miRNAs	Case				Detection rate
	1	2	3	4	
miR-221	+	+	-	-	
miR-100	+	-	-	-	3/4
miR-99a	+	-	-	-	
miR-7i	-	-	+	-	
miR-424	+	-	-	-	

図 2 HE2 陽性乳癌細胞で発現が亢進する microRNA

hsa-miR-31	>100
hsa-miR-130a	56
hsa-miR-29a	7.9
hsa-miR-675	6.7
hsa-miR-205	5.4
hsa-miR-423-5p	5.4
hsa-miR-423-3p	5.3
hsa-miR-29c	5.1

図 3 OCT4 の乳癌症例における発現



PTEN のシグナル伝達は幹細胞維持および癌化に重要な役割を果たすと考えられている。乳癌では PTEN の DNA のメチル化異常がほとんど認められないにも関わらず、PTEN の蛋白質レベルでの発現は高頻度に低下していた。PTEN の遺伝子変異頻度は低いことが報告されていることから、DNA メチル化以外のサイレンシング機構が関与している可能性があると考えられた。

non-coding RNA の一種である microRNA は標的 mRNA に結合し、翻訳を制御することによりタンパク質の発現異常をもたらす。一種類の microRNA が多くの標的遺伝子の発現を制御することが知られ、幹細胞の維持および癌化にも重要な役割を果たすと考えられている。HER2 シグナルが幹細胞形成に関与することが示唆されていることから、HER2 陽性乳癌に関連する microRNA 異常を新たに同定した。これらの microRNA は血液および組織検体で検出可能であったことから、診断マーカーおよびサブタイプ分類マーカーとして有用である可能性が示唆された。

OCT4 は幹細胞維持に関与する転写因子であり、乳癌では特に悪性度の高いサブタイプで高頻度に発現亢進が認められた。癌幹細胞の概念が、薬物療法および放射線治療抵抗性を考える上で重要であることから、OCT4 の発現状態の違いが再発および治療反応性に影響する可能性が考えられ、今後明らかにされる必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Terada K, Okochi-Takada E, Akashi-Tanaka S, Miyamoto K, Taniyama K, Tsuda H, Asada K, Kaminishi M, Ushijima T Association between frequent CpG island

methylation and HER2 amplification in human breast cancers. *Carcinogenesis*. 30: 466-71. 2009

2. Iwase H, Kurebayashi J, Tsuda H, Ohta T, Kurosumi M, Miyamoto K, Yamamoto Y, Iwase T. Clinicopathological analyses of triple negative breast cancer using surveillance data from the Registration Committee of the Japanese Breast Cancer Society. *Breast Cancer*. (in press)
3. PCR/RT-PCR 「アトラス 細胞診と病理診断 医学書籍」 (印刷中)
4. FCM 「アトラス 細胞診と病理診断 医学書籍」 (印刷中)

[学会発表] (計 5 件)

1. Miyamoto K, et al. MDFI (MyoD family inhibitor), which regulates myogenic and Wnt/ β -catenin signaling pathways, is inactivated in human breast cancer by epigenetic gene silencing. The 98th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research., Los Angeles, CA April 14-18, 2007
2. Saito A, Miyamoto K, et al. Epigenetic alteration of *SMAD4* in human breast, lung, and ovarian cancers. 第 66 回日本癌学会学術総会, 2007 年 10 月 3-5 日, 横浜
3. Terada k, Miyamoto K, et al. Association between the CpG island methylator phenotype and clinicopathological findings in human breast cancers. 第 66 回日本癌学会学術総会, 2007 年 10 月 3-5 日, 横浜
4. 川上洋介, 宮本和明, 他 卵巣がんにおける腫瘍抑制遺伝子 *RUNX3* のエピジェネティックな異常 第 45 回日本癌治療学会総会, 2007 年 10 月 24-26 日, 京都

5. 吉田裕, 宮本和明 乳癌における多剤耐性遺伝子 *MDR1* のエピジェネティックな異常第6回日本臨床腫瘍学会学術集会, 2008年3月20-21日, 福岡

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 件)
特許1件出願準備中

○取得状況(計 件)

〔その他〕

6. 研究組織
(1)研究代表者
宮本和明

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし